

⑫ 公開特許公報(A) 昭61-155335

⑮ Int.Cl.⁴

識別記号

庁内整理番号

⑬ 公開 昭和61年(1986)7月15日

A 61 K 39/395

8214-4C

審査請求 未請求 発明の数 1 (全9頁)

⑭ 発明の名称 免疫調節剤

⑰ 特 願 昭59-276758

⑱ 出 願 昭59(1984)12月28日

⑲ 発 明 者 渡 辺 正 弘 明石市大蔵谷清水570-22
⑲ 発 明 者 中 島 常 隆 橿原市五條野町1330-61
⑲ 発 明 者 増 田 博 俊 尼崎市尾浜町3丁目17番7号
⑲ 発 明 者 岩 井 正 和 藤井寺市小山5丁目5番18号
⑲ 発 明 者 横 山 和 正 豊中市寺内2-7番2-201
⑳ 出 願 人 株式会社 ミドリ十字 大阪市東区今橋1丁目15番地の1
㉑ 代 理 人 弁理士 高 島 一

PTO 2002-4585

S.T.I.C. Translations Branch

明 細 書

1. 発明の名称

免疫調節剤

2. 特許請求の範囲

(1) ヒトIgGのブロック化Fc断片、ヒトIgGのブロック化Fab断片、ヒトIgGのブロック化L鎖、ヒトIgGのブロック化H鎖から選ばれる少なくとも一種を有効成分とする免疫調節剤。

(2) 形態が静脈内、筋肉内、又は経口投与用の液状製剤である特許請求の範囲第(1)項記載の免疫調節剤。

(3) 形態が経口投与用の散剤、錠剤、カプセル剤、又はリポソーム製剤である特許請求の範囲第(1)項記載の免疫調節剤。

3. 発明の詳細な説明

(産業上の利用分野)

本発明は、ヒトIgGのブロック化Fc断片(以下、ブロック化Fc断片ともいう)、ヒトIgGのブロック化Fab断片(以下、ブロック化F

a断片ともいう)、ヒトIgGのブロック化L鎖(以下、ブロック化L鎖ともいう)、ヒトIgGのブロック化H鎖(以下、ブロック化H鎖ともいう)を主成分とする免疫調節剤に係る。

(従来の技術)

これら一連のブロック化物は、当該Fc断片、Fab断片、L鎖およびH鎖の-SH基を適当な基でブロックしたものである。

上述の一連のブロック化物、就中、アルキル化Fc断片、アルキル化Fab断片、アルキル化L鎖およびアルキル化H鎖に関する現在知られている薬理作用としては、抗消化器潰瘍作用(Miura, T. J. Pharm/Dyn., 6, 397(1983))があるが、これらが宿主免疫系に及ぼす影響については全く知られていない。

(発明が解決しようとする問題点)

本発明はブロック化Fc断片、ブロック化Fab断片、ブロック化L鎖およびブロック化H鎖のヒトIgG由来物質の新規用途を提供することである。

(問題点を解決するための手段)

今回、本発明者らは、ヒトIgGより調整したブロック化Fc断片、ブロック化Fab断片、ブロック化L鎖およびブロック化H鎖が宿主の免疫応答状態により、免疫増強的にあるいは免疫抑制的に作用する、いわゆる免疫調節作用を有することを見出し、本発明を完成した。即ち、本発明は、ブロック化Fc断片、ブロック化Fab断片、ブロック化L鎖およびブロック化H鎖から選ばれた少なくとも一種を有効成分とする免疫調節剤に関する。

膠原病、リウマチ性疾患には宿主免疫応答に異常があり、自己成分を認識して自己抗体を産生することがその病態形成に重要な役割を果たすと考えられている。従って、その治療には異常な免疫反応を是正することが必要である。免疫調節剤の対象は宿主の免疫機能不全によってもたらされる疾患と言える。

さて、ヒトIgGのFc断片およびFab断片は、公知のIgG断片としてすでに報告されてお

交換体(CM-セルロースおよびDEAE-セルロース)によってクロマトグラフィーを行い、ヒトIgGのFc断片およびFab断片を選択的に吸着させ溶出、回収する。

ヒトIgGのFc断片およびFab断片を回収後、還元剤で処理を行い、ジスルフィド結合を切断し、ブロック化(たとえば、アルキル化)処理を行って、ブロック化(アルキル化)Fc断片およびブロック化(アルキル化)Fab断片を得る。

還元剤としては、2-メルカプトエタノール(終濃度0.75~5.25M)、ジチオスレイトール、ジチオエリスリトール(終濃度0.01~0.068M)等が用いられ、その使用量は終濃度0.01~0.068Mとなるに相当する量である。

ブロック化Fc断片あるいはブロック化Fab断片は、SH基を通常の方法に従ってブロックすることによって製造される(Biochemistry, 7, 1950(1968))。当該ブロック化は、たとえば次のごとき薬理的に許容される基、特にアルキル基、置換アルキル基を、既知の手段によって導入する

り、例えばポーターらの報告(Biochem. J., 13, 119(1959))がある。このヒトIgGのFc断片あるいはFab断片は、ヒト由来のIgGをババイン、又はブラスミンで分解して得られる分子量45,000~50,000のポリペプチド鎖であり、その回収法は前記ポーターらによって確立されている。

本発明において有効成分として特定されるブロック化Fc断片およびブロック化Fab断片は、ヒトIgGのFc断片およびFab断片のジスルフィド結合を切断し、生成した各断片の-SH基をブロック化処理することによって得られる。

本発明にかかるブロック化Fc断片およびブロック化Fab断片の代表的回収法の概要は次の通りである。

IgGを含有する溶液(タンパク濃度2~10%)をpH6~9に調整し、これにブラスミン又はババインを添加して20~40℃において10~30時間処理する。ついで、この処理液から不溶物を除去し、ゲル濾過処理によって未消化のIgGと消化産物とを分離する。消化産物は、イオン

ことによって行われる。なお、本明細書において低級とは、通常、炭素数1~4のものをいう。

① 低級アルキル基: メチル、エチル、n-プロピルなど

② N, N-ジ低級アルキルカルバミド-低級アルキル基: N, N-ジエチルカルバミドメチル

③ 低級アルコキシカルボニル基-低級アルキル: エトキシカルボニルメチル、エトキシカルボニルエチルなど

④ カルボキシ-低級アルキル基: カルボキシメチル、カルボキシエチルなど

⑤ シアノ-低級アルキル基: シアノメチルなど

⑥ β-アミノ-低級アルキル基: -CH₂CH₂NH₂など

⑦ ベンゾイル-低級アルキル基: -CH₂COC₆H₅など

⑧ カルバモイル-低級アルキル基: -CH₂CONH₂など

⑨ スルト基

一方、ヒト Ig G 由来の L 鎖および H 鎖は、公知の Ig G の構成断片としてすでに報告されており、例えばフライシマンらの報告がある (Arch. Biochem. Biophys., Suppl. (1), 174 (1962))。本発明において有効成分として特定される L 鎖および H 鎖はヒト由来の Ig G から Ig G のジスルフィド結合を切断して得られる分子量 23,000 と 1,000 および 50,000 と 1,500 のポリペプチド鎖であり、その回収法は、前記フライシマンらによって確立されている。本発明に係る L 鎖および H 鎖の代表的回収法の概要は次の通りである。

Ig G を 0.55 M のトリス-HCl 緩衝液、pH 8.2 に約 2% の濃度に溶かす。静かに窒素ガスを通してから、2-メルカプトエタノールを終濃度 0.75 M になる様に加え、室温に 1 時間放置して還元を行う。次に、氷水浴で冷却し、これに 2-メルカプトエタノールと同量の 0.75 M モノヨードアセトアミドを加え、溶液の pH をトリメチルアミンなどの添加により 8.0 に保ちながら 1 時間程

度反応させたのち希食塩水に透析して余剰の試薬を除く。この反応で、L 鎖あるいは H 鎖中の遊離の SH 基がブロックされる。次に、冷却した 1 M プロピオン酸に透析して L 鎖と H 鎖を解離させ、1 M プロピオン酸で平衡化したセファデックス G-75 のカラムを通過させると L 鎖と H 鎖が分離した 2 つのピークとして溶出される。L 鎖および H 鎖画分をそれぞれ回収後、透析、除菌濾過、加熱処理、凍結乾燥等の医薬品として提供されうる所望の公知の処理を施す。

本発明に用いられる L 鎖および H 鎖は、もちろん上記の回収法より得られたものだけではなく、応用可能な他の方法に従って製造された L 鎖あるいは H 鎖であってもよい。これら L 鎖および H 鎖は、その SH 基がブロック化、特にアルキル化、スルホ化などの実理的に許容される基により保護されている。ブロック化に際して置換される基としては、上記と同様の基が例示される。

これらブロック化されたものは自体既知の手段、又はこれに準ずる手段にて製造することが出来る。

次に、本発明のブロック化 Fc 断片、ブロック化 Fab 断片、ブロック化 L 鎖およびブロック化 H 鎖の実理作用および臨床試験、急性毒性試験、投与量、投与方法等を確認するために行った実験例を示す。

実験例 1 (抗体産生に対する影響)

CDF、マウス (7~8 週令、雄性) に、 2×10^8 の羊赤血球 (SRBC) を静脈内投与により免疫し、4 日後に脾臓を摘出して、抗体産生細胞 (Hemolytic plaque forming cell) の数を測定し、抗体産生に対する被検薬の影響を調べた。抗体産生細胞数の測定は、Cunningham らの方法 (Immunology, 14, 599 (1968)) に準じた。なお、被検薬としてのカルバモイルメチル化 Fc 断片、カルバモイルメチル化 Fab 断片、カルバモイルメチル化 L 鎖およびカルバモイルメチル化 H 鎖の投与は抗原としての SRBC の投与後、直ちに静脈内注射した。なお、実験には一群を 4 匹とした。その結果を示したものが表 1 である。

対照群の脾臓中の抗 SRBC 抗体産生細胞数に

比べ、カルバモイルメチル化 Fc 断片、カルバモイルメチル化 Fab 断片、カルバモイルメチル化 L 鎖およびカルバモイルメチル化 H 鎖を投与した場合、顕著な抗体産生の亢進が認められた。

実験例 2 (免疫機能低下宿主に対する作用)

CDF、マウス (7~8 週令、雄性) に免疫機能低下状態を作成するにあたり、以下の実験条件で免疫抑制剤を投与した。アザチオプリン (40 mg/kg)、シクロホスファミド (50 mg/kg)、あるいはベタメタゾン (1 mg/kg) は抗原刺激の 4 日前、3 日前、2 日前に投与した。これら薬剤の投与経路はすべて腹腔内注射であった。その後、羊赤血球 (SRBC) (2×10^8) による抗原刺激と同時に、被検薬としてのカルバモイルメチル化 Fc 断片、カルバモイルメチル化 Fab 断片、カルバモイルメチル化 L 鎖あるいはカルバモイルメチル化 H 鎖を投与し、4 日目の脾臓中の抗体産生細胞数を測定し、免疫機能低下宿主に対する作用を検討した。本実験においては、対照薬剤として免疫調節剤の一つであるレバミゾールを適

んだ。レバミゾールは腹腔内注射とし、他の薬剤は静脈内注射とした。なお、一群を4匹とした。以上の結果を示したものが表2である。

無処置群に比べ免疫抑制剤投与群は抗体産生細胞数が減少しているが、その様な免疫機能低下宿主に対しても、カルバモイルメチル化Fc断片、カルバモイルメチル化Fab断片、カルバモイルメチル化H鎖およびカルバモイルメチル化H鎖投与群は、抗体産生細胞数が亢進されていることが認められた。

実験例3(免疫機能亢進宿主に対する作用)

抗原と共にコルヒチンを投与すると、サブレンサーT細胞の誘導が阻害されるために抗体産性の亢進することが報告されている(J. Exp. Med., 147, 1213(1977))。本実験においては、ハプテン基としてのTNPを種々の方法(免疫実験操作法 p.1129(1971), 日本免疫学会)に順じてキーホールリンペットヘモシアニン(KLH)へ導入し、いわゆるTNP-KLHを抗原として用いた。TNP-KLH(200μg/マウス)を

ト関節炎に対する作用)

体重200g前後のウィスター系雄性ラットを用い、エーテル麻酔下に右側後肢足蹠皮下に流動パラフィン懸濁したMycobacterium butyricum(Difk)、0.5mg/50μlを注入した。被検薬としてのカルボキシメチル化Fc断片、カルボキシメチル化Fab断片、カルボキシメチル化H鎖あるいはカルボキシメチル化H鎖をアジュバント処置日から20mg/kg/日の割合で20日間静脈内投与した。なお、対照薬剤として、リュウマチ治療薬の一つであるD-ペニシラミンを用い、これを腹腔内注射した。その後、両後肢の容積を足蹠浮腫容積測定装置にて測定した。なお、実験は一群7匹とした。その結果を示したものが、表4である。

アジュバント処置後肢の浮腫率の推移のうち、10日目と20日目の場合を示しているが、7日目以後の遅発性浮腫に対しては、対照群に比べ、カルボキシメチル化Fc断片、カルボキシメチル化Fab断片、カルボキシメチル化H鎖あるいは

アジュバントとしてのヘントナイトと共にCDF₁マウスの腹腔内へ投与し、同時にコルヒチン(1mg/kg)を腹腔内へ投与し、さらに被検薬としてのカルバモイルメチル化Fc断片、カルバモイルメチル化Fab断片、カルバモイルメチル化H鎖あるいはカルバモイルメチル化H鎖を静脈内へ投与し、その後6日目に脾臓中の抗TNP抗体産生細胞数を測定し、免疫機能亢進宿主に対する作用を調べた。なお、実験群は、一群を4匹とした。その結果を示したものが表3である。

無処置に比較して、コルヒチン処置の対照群は、明らかな抗体産生細胞数が増加しており、いわゆる免疫機能が亢進していると考えられる状態であるが、カルバモイルメチル化Fc断片、カルバモイルメチル化Fab断片、カルバモイルメチル化H鎖およびカルバモイルメチル化H鎖投与群の免疫応答は、無処置群(正常マウス)に近似した値であり、宿主の亢進した免疫機能を抑制する傾向にあることが判る。

実験例4(リュウマチモデルとしてのアジュバン

カルボキシメチル化H鎖投与群は明らかなアジュバント関節炎に対する抑制作用を示した。

(投与量および投与方法)

有効成分であるブロック化Fc断片、ブロック化Fab断片、ブロック化H鎖およびブロック化H鎖は、前記試験の結果から成人1日当たり1~100mg/kg投与することが好ましい。

本薬剤は、注射剤及び経口剤のいずれの形態でも投与可能である。注射剤として使用するとき、例えば用時に於いて注射用蒸留水等に溶解して使用される。投与の方法は、通常静脈内及び筋肉内投与である。経口剤として使用するとき、カプセル剤、錠剤、散剤、リボソーム製剤あるいは経口用液体製剤等として投与される。経口剤の場合は、腸溶性としてもよい。これらは、当業者に周知の方法、例えば日本薬局方に記載された方法に従って製造される。

(作用・効果)

本発明に関するブロック化Fc断片、ブロック化Fab断片、ブロック化H鎖およびブロック化

H鎖は、毒性がきわめて低く、又その免疫調節作用が顕著であるから、リュウマチ性疾患、膠原病、アジュバント関節炎等の免疫不全に起因する疾患の治療予防剤（即ち、免疫調整剤）として極めて有用と考えられる。ところで、たとえばアジュバント関節炎に対する作用から、本発明にいう免疫調整剤は、抗炎症剤を含む概念である。

（参考例・実施例）

次にブロック化Fc断片、ブロック化Fab断片の製造法についての参考例、および本発明の実施例を示す。

参考例1

1g Gの3%溶液（60ml）にアジ化ナトリウムを60mg加え、1N NaOH溶液を用いてpHを7.5に調整する。プラスミンを最終濃度4cu/mlになるよう添加し、35℃において約15時間消化処理をおこなう。処理後pHを6.5に修正し、4℃にて1時間静置した後、遠心分離によって不溶物を除く。プラスミン消化液（約60ml）をセファデックスG-200のカラムに注入し、ゲル濾過処

理を行って、冷却後不溶物を遠心分離し、上清をセファデックスG-150カラムによって分離し7S画分を得た。これをpH7.5～8.0で終濃度0.01Mのジチオスレイトールで室温で2時間処理し、次いでヨードアセトアミドを終濃度0.2Mになるよう加え、氷冷下1時間反応させた。これをpH8の0.005Mトリス-HClに対して透析し、生じた結晶を遠心分離した。上清は粗ブロック化Fab断片であり、沈殿画分をブロック化Fc断片として回収した。

参考例3

1g Gを0.05Mのトリス-HCl緩衝液（pH8.2）に約2%の濃度に溶かし、2-メルカプトエタノールを終濃度0.75Mにまで添加し、ジスルフィド結合を切断した。次いで0.7Mヨード酢酸を加え、pHを8.0に保ち1時間反応させた後、セファデックスG-25カラムで余剰の試薬を除去した。次に、SDS（sodium dodecyl sulfate）存在下セファデックスG-200カラム（4.0×120cm）（溶媒：0.04M SDS-0.05Mリ

ン酸緩衝液（pH8.0））にかけて、0.0280mmで測定し、L鎖およびH鎖画分を回収した。次にL鎖画分あるいはH鎖画分からSDSを除去し、生理食塩水に対して透析し、さらに除菌濾過を行った後、凍結乾燥品とした。

理を行い、未消化グロブリン（7S）と消化産物（Fab+Fc）とに分離する。この消化産物は次いでCM-セルロースのカラム（pH7.0）と接触させ、Fab断片およびFc断片を吸着させる。カラムで洗浄した後、0.01Mリン酸緩衝液（pH7.0）に0.3MのNaClを加えた溶媒で展開し、Fab断片及びFc断片を別々に回収する。

参考例2

1g Gの2.5%溶液（20ml；0.02MのEDTA-0.05Mリン酸緩衝液pH7.5）にパバイン5mgを添加し、37℃、10～20分間消化後、

得られた両断片を0.05Mのトリス-HCl緩衝液（pH8.2）に約2%の濃度に溶かし、2-メルカプトエタノールを終濃度0.75～5.25Mにまで添加し、ジスルフィド結合を切断した。ついで0.75～5.25Mヨード酢酸を加え、pHを8.0に保ち1時間反応させた後、セファデックスG-25カラムで余剰の試料を除去した。次に、生理食塩水に対して透析し、さらに除菌濾過を行ったあと、それぞれを凍結乾燥品とした。

次に本発明の実施例を示す。

実施例1（経口用製剤）

- | | |
|---|--------|
| (1) ヒトIgG由来カルバモイルメチル化Fc断片、カルバモイルメチル化Fab断片、カルバモイルメチル化L鎖、あるいはカルバモイルメチル化H鎖 | 5.0mg |
| (2) 産打用微粒No.209（富士化学社製）メタケイ酸アルミン酸 | 46.6mg |
| マグネシウム | 20% |
| トウモロコシデンプン | 30% |
| 乳糖 | 50% |
| (3) 結晶セルロース | 24.0mg |
| (4) カルボキシルメチルセルロース・カルシウム | 4.0mg |

(5) ステアリン酸マグネシウム 0.4 mg

(1)、(3)および(4)はいずれも予め100メッシュの篩に通す。この(1)、(3)、(4)と(2)をそれぞれ乾燥させて一定含水率にまで下げた後、上記の重量割合で混合機を用いて混合する。全質均等にした混合末に(5)を添加して短時間(30秒間)混合し、混合末を打錠(特: 6.3mmφ、6.0mmR)して、1錠80mgの錠剤とした。

この錠剤は必要に応じて通常用いられる胃溶性フィルムコーティング剤(例、ポリビニルアセタールジエチルアミノアセテート)や食用性着色剤でコーティングしてもよい。

実施例2 (静脈内注射剤)

- (1) ヒト1g由来カルバモイルメチル化Fc断片、カルバモイルメチル化Fab断片、カルバモイルメチル化H鎖、あるいはカルバモイルメチル化H鎖 50mg
- (2) ブドウ糖 100mg
- (3) 生理食塩水 10ml

カルボキシメチル化Fab断片、カルボキシメチル化H鎖またはカルボキシメチル化H鎖を0.125M NaClを含む0.01Mリン酸緩衝液(pH7.2)に約0.5%の濃度に溶かす。

他方、0、5、10、20% (w/w) のフォスファチジン酸を含む卵黄リン脂質100mgを、10mlのクロロホルムにそれぞれ溶解、回転エバポレーターを用いて、リン脂質のフィルムを形成させた。これに上記のカルボキシメチル化Fc断片、カルボキシメチル化Fab断片、カルボキシメチル化H鎖あるいはカルボキシメチル化H鎖の溶液1mlを加え、振盪することによって閉鎖脂肪小体を形成し、これら薬剤を取り込ませてリポソーム製剤を得た。

(以下余白)

(3)に(1)と(2)を上記の重量割合で加えて攪拌し、

完全に溶解させる。この溶解液を孔径0.45μのメンブランフィルターを用いて濾過した後、再び孔径0.20μのメンブランフィルターを用いて除菌濾過を行う。濾過液を10mlずつ無菌的にバイアルに分注し、窒素ガスを充填した後、密封して静脈内注射剤とする。

実施例3 (カプセル剤)

- (1) ヒト1g由来カルバモイルメチル化Fc断片、カルバモイルメチル化Fab断片、カルバモイルメチル化H鎖、あるいはカルバモイルメチル化H鎖 50g
- (2) 乳糖 935g
- (3) ステアリン酸マグネシウム 15g

上記成分をそれぞれ秤量して合計1000gを均一に混合し、混合粉体をハードゼラチンカプセルに200mgずつ充填する。

実施例4 (リポソーム製剤)

ヒト1g由来カルボキシメチル化Fc断片、

表 1

処置	投与量 (mg/kg)	抗SRBC 抗体産生細胞数/脾臓 ($\times 10^4$)	(促進率%)
対照 (生理食塩水)	-	10.2 ± 2.5 ※	(100)
天然 IgG	25	10.9 ± 2.7	(107)
カルバモイルメチル化Fc断片	25	48.2 ± 3.2	(473)
"	7.5	40.7 ± 10.2	(399)
"	2.5	36.5 ± 10.9	(358)
Fc断片	25	11.2 ± 3.7	(109)
"	7.5	11.4 ± 1.7	(111)
カルバモイルメチル化Fab断片	25	20.1 ± 9.1	(197)
"	7.5	19.0 ± 3.8	(184)
"	2.5	16.1 ± 5.4	(156)
Fab断片	25	10.5 ± 1.3	(103)
"	7.5	9.9 ± 0.8	(96)
カルバモイルメチル化L鎖	25	43.1 ± 12.8	(423)
"	7.5	40.9 ± 9.5	(401)
"	2.5	33.0 ± 6.2	(324)
L鎖	25	10.4 ± 1.7	(102)
"	7.5	10.8 ± 2.4	(106)
カルバモイルメチル化H鎖	25	22.7 ± 7.3	(223)
"	7.5	17.3 ± 8.9	(169)
"	2.5	15.6 ± 7.3	(153)
H鎖	25	11.4 ± 3.0	(112)
"	7.5	10.7 ± 1.5	(105)

※ 平均 ± 標準偏差

表 2

免疫機能 低下処置	投与薬剤 (25mg/kg)	抗SRBC 抗体産生細胞数/脾臓 ($\times 10^3$)	無処置マウスに対する 抗体産生細胞数の割合 (%)
無処置	対照 (生理食塩水)	163.8 ± 33.7 ※	(100)
	カルバモイルメチル化Fc断片	345.5 ± 84.9	(211)
	" Fab断片	291.5 ± 20.3	(178)
	" L鎖	328.4 ± 45.1	(201)
	" H鎖	305.9 ± 21.6	(187)
	レバミゾール	351.6 ± 31.7	(215)
アザチオプ チン処理	対照 (生理食塩水)	15.7 ± 3.4	(9.6)
	天然IgG	17.3 ± 2.1	(10.6)
	カルバモイルメチル化Fc断片	70.8 ± 16.6	(43.2)
	" Fab断片	34.7 ± 7.4	(21.2)
	" L鎖	75.6 ± 10.9	(46.2)
	" H鎖	30.6 ± 8.2	(18.7)
	Fc断片	17.8 ± 1.4	(10.9)
	Fab断片	15.5 ± 0.9	(9.5)
	L鎖	16.5 ± 1.7	(10.1)
	H鎖	14.8 ± 0.8	(9.0)
	レバミゾール	37.6 ± 11.8	(22.9)
シクロホス ファイド処理	対照 (生理食塩水)	16.8 ± 6.7	(10.2)
	天然IgG	16.2 ± 6.8	(9.9)
	カルバモイルメチル化Fc断片	26.0 ± 6.6	(15.9)
	" Fab断片	20.7 ± 4.3	(12.6)
	" L鎖	27.1 ± 5.4	(16.5)
	" H鎖	19.3 ± 3.6	(11.8)
	Fc断片	16.5 ± 4.2	(10.1)
	Fab断片	15.9 ± 3.0	(9.7)
	L鎖	15.5 ± 5.3	(9.5)
	H鎖	16.1 ± 4.8	(9.8)
	レバミゾール	22.6 ± 6.9	(13.8)
ベタメタ ゾン処理	対照 (生理食塩水)	62.8 ± 21.1	(38.3)
	天然IgG	59.6 ± 17.3	(36.4)
	カルバモイルメチル化Fc断片	104.3 ± 31.2	(63.7)
	" Fab断片	98.2 ± 27.1	(60.6)
	" L鎖	118.5 ± 25.3	(72.3)
	" H鎖	87.9 ± 18.2	(53.7)
	Fc断片	58.6 ± 17.3	(35.8)
	Fab断片	60.7 ± 20.8	(37.1)
	L鎖	61.2 ± 14.9	(37.4)
	H鎖	57.3 ± 25.4	(34.9)
	レバミゾール	41.6 ± 15.4	(25.4)

※ 平均 ± 標準偏差

表 3

免疫機能 亢進処置	投与薬剤 (25mg/kg)	抗TNP 抗体産生細胞数/脾臓 ($\times 10^2$)	無処置マウスに対する 抗体産生細胞数の割合 (%)
無処置	-	63.0 \pm 22.7	(100)
コルヒ チン 処置	対照 (生理食塩水)	136.7 \pm 34.4	(217)
	天然IgG	128.1 \pm 76.0	(203)
	カルバモイルメチル化Fc断片	82.0 \pm 23.2	(130)
	" Fab断片	108.4 \pm 28.4	(172)
	" L鎖	93.7 \pm 18.6	(149)
	" H鎖	114.0 \pm 31.2	(181)
	Fc断片	140.8 \pm 25.8	(223)
	Fab断片	139.1 \pm 14.4	(221)
	L鎖	138.4 \pm 2.9	(219)
	H鎖	151.7 \pm 30.6	(241)

※ 平均 \pm 標準偏差

表 4

投与薬剤 (20mg/kg/日)	浮腫率※	
	10日目	20日目
対照 (生理食塩水)	92.5 \pm 30.4	215.3 \pm 85.6
カルボキシメチル化Fc断片	38.9 \pm 29.7	94.7 \pm 31.3
" Fab断片	54.7 \pm 11.9	132.2 \pm 50.0
" L鎖	40.4 \pm 17.4	98.1 \pm 26.8
" H鎖	49.2 \pm 30.6	153.2 \pm 37.3
Fc断片	88.1 \pm 20.5	198.5 \pm 64.1
Fab断片	93.4 \pm 27.9	224.0 \pm 93.7
L鎖	90.7 \pm 15.3	206.4 \pm 42.8
H鎖	92.8 \pm 31.6	213.7 \pm 69.3
D-ベンシラミン	60.4 \pm 18.8	116.6 \pm 41.2

※ アジュバント処置後の浮腫容積 - アジュバント処置前の浮腫容積 $\times 10$ ※ ※ 平均 \pm 標準偏差

手 続 補 正 (自 発)

昭和60年5月30日

特許庁長官 殿

1. 事件の表示

昭和59年特許願第276758号

2. 発明の名称

免疫調節剤

3. 補正をする者

事件との関係 特許出願人

氏名 (名称) 株式会社 ミドリ十字

4. 代理人 〇541

住所 大阪市東区平野町4丁目53番地3

ニューライフ平野町 406号

高島国際特許事務所 〇 (06) 227-1156

氏名 弁理士 (8079) 高 島

5. 補正の対象

明細書の「発明の詳細な説明」の欄

6. 補正の内容

- (1) 明細書第2頁、第12～13行の「Mimura, T. J. Pharm/Dyn.,」を「ミムラ、ティー., ジャーナル オブ ファーマコバイオ ダイナミクス (Mimura, T., J. Pharm. Dyn.,)」に訂正する。

- (2) 同書第3頁、第2行の「調整」を「調整」

に訂正する。

- (3) 同書第5頁、第13～14行の「用いられ、その使用量は終濃度 0.01～0.068 Mとなるに相当する量である。」を「用いられる。」に訂正する。
- (4) 同書第13頁、第6行の「カルボキシメチル化Fc断片」を「カルバモイルメチル化Fc断片」に訂正する。
- (5) 同書第13頁、第6～7行の「カルボキシメチル化Fab断片」を「カルバモイルメチル化Fab断片」に訂正する。
- (6) 同書第13頁、第7行の「カルボキシメチル化L鎖」を「カルバモイルメチル化L鎖」に訂正する。
- (7) 同書第13頁、第8行の「カルボキシメチル化H鎖」を「カルバモイルメチル化H鎖」に訂正する。
- (8) 同書第13頁、第19行の「カルボキシメチル化Fc断片」を「カルバモイルメチル化Fc断片」に訂正する。
- (9) 同書第13頁、第19～20行の「カルボキシメチル化Fab断片」を「カルバモイルメチル化Fab断片」に訂正する。
- (10) 同書第13頁、第20行の「カルボキシメチル化L鎖」を「カルバモイルメチル化L

項」に訂正する。

- (11) 同書第14頁、第1行の「カルボキシメチル化H鎖」を「カルバモイルメチル化H鎖」に訂正する。
- (12) 同書第15頁、第2～3行の「アジュバント関節炎」を削除する。
- (13) 同書第15頁、第4行の「調整剤」を「調節剤」に訂正する。
- (14) 同書第15頁、第7行の「調整剤」を「調節剤」に訂正する。
- (15) 同書第20頁、第20行の「カルボキシメチル化Fc断片」を「カルバモイルメチル化Fc断片」に訂正する。
- (16) 同書第21頁、第1行の「カルボキシメチル化Fab断片」を「カルバモイルメチル化Fab断片」に訂正する。
- (17) 同書第21頁、第1～2行の「カルボキシメチル化L鎖」を「カルバモイルメチル化L鎖」に訂正する。
- (18) 同書第21頁、第2行の「カルボキシメチル化H鎖」を「カルバモイルメチル化H鎖」に訂正する。
- (19) 同書第21頁、第9行の「カルボキシメチル」を「カルバモイルメチル」に訂正する。
- (20) 同書第21頁、第10行の「カルボキシメ

チル化Fab断片」を「カルバモイルメチル化Fab断片」に訂正する。

- (21) 同書第21頁、第10～11行の「カルボキシメチル化L鎖」を「カルバモイルメチル化L鎖」に訂正する。
- (22) 同書第21頁、第11行の「カルボキシメチル化H鎖」を「カルバモイルメチル化H鎖」に訂正する。
- (23) 同書第(26)(27)頁の全文を別紙の通りに訂正する。

以上

表 3

免疫機能 亢進処置	投与薬剤 (25mg/kg)	抗TNP 抗体産生細胞数/脾臓 ($\times 10^2$)	無処置マウスに対する 抗体産生細胞数の割合 (%)
無処置	—	63.0 \pm 22.7*	(100)
コルヒ チン 処置	対照(生理食塩水)	136.7 \pm 34.4	(217)
	天然IgG	128.1 \pm 76.0	(203)
	カルバモイルメチル化Fc断片	82.0 \pm 23.2	(130)
	Fab断片	108.4 \pm 28.4	(172)
	L鎖	93.7 \pm 18.6	(149)
	H鎖	114.0 \pm 31.2	(181)
	Fc断片	140.8 \pm 25.8	(223)
	Fab断片	139.1 \pm 14.4	(221)
	L鎖	138.4 \pm 2.9	(219)
	H鎖	151.7 \pm 30.6	(241)

* 平均 \pm 標準偏差

表 4

投与薬剤 (20mg/kg/日)	浮腫率(%) *	
	10日目	20日目
対照(生理食塩水)	92.5 \pm 30.4**	215.3 \pm 85.6
カルバモイルメチル化Fc断片	38.9 \pm 29.7	94.7 \pm 31.3
Fab断片	54.7 \pm 11.9	132.2 \pm 50.0
L鎖	40.4 \pm 17.4	98.1 \pm 26.8
H鎖	49.2 \pm 30.6	153.2 \pm 37.3
Fc断片	88.1 \pm 20.5	198.5 \pm 64.1
Fab断片	93.4 \pm 27.9	224.0 \pm 93.7
L鎖	90.7 \pm 15.3	206.4 \pm 42.8
H鎖	92.8 \pm 31.6	213.7 \pm 69.3
D-ペニシラミン	60.4 \pm 18.8	116.6 \pm 41.2

* アジュバント処置後の浮腫容積 - アジュバント処置前の浮腫容積 $\times 100$

** 平均 \pm 標準偏差